

## Annual Cycle of the Seminiferous Epithelium of *Miniopterus schreibersi fuliginosus*

Mu-Shik Kang and Jung-Hun Lee<sup>†</sup>

Division of Biology and chemistry, College of Natural Sciences, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

The characteristics of the testis and the annual cycle of the seminiferous epithelium of the *Miniopterus schreibersi fuliginosus* were examined by optical microscopy. The testis weight and diameter of the seminiferous tubules were increased gradually from May to July, and the highest activity was observed in August. The size then decreased rapidly from October. Spermatogenesis began in May, peaked in August, and was suspended from October to April in the following year. Spermatocytogenesis were produced from May to July. Spermiogenesis occurred from August to September. In particular, immature spermatogenic cells in the seminiferous tubules were engulfed by the phagocytosis of Sertoli cells in October. From November to April, the seminiferous tubule contained only Sertoli cells and Ad spermatogonia. Therefore, the periodic changes in the seminiferous epithelium of *M. s. fuliginosus* suggest that a long hibernation is an adaptive strategy for the preservation of energy and the regulation of the breeding cycle.

**Key Words:** Seminiferous epithelium, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*, Phagocytosis, Spermatogenesis

### 서 론

박쥐류 (Chiroptera)는 원시 식충목 (Insectivora)에서 유래된 것으로 포유류 중에서 유일하게 날 수 있으며, 특히 온대 산 동면성 박쥐류의 경우, 그들의 번식기간이 동면에 의해 중단되어지고, 특정 시기에만 국한되기 때문에 번식유형에 있어서는 일반 포유류와는 많은 차이를 나타낸다. 그러므로 그들의 번식전략은 긴 동면 동안 에너지의 효율적인 이용과 번식조절을 위한 일종의 적응전략을 의미하며 (Funakoshi & Uchida, 1978) 수정에 많은 영향을 미친다 (Oh et al., 1985).

박쥐류에 관한 연구는 Fawcett와 Ito (1965)가 전자현미경을 이용하여 정자의 미세구조를 처음으로 제시한 이후 많은 연구가 수행되어져 왔다. 특히 본 종과 관련된 연구로서는 생식 (Mōri & Uchida, 1981a, 1981b; Kimura & Uchida, 1983, 1984; Kimura et al., 1987), 정자형성과 정자변태 (Son et al., 1995), 수정능 획득과 수정 (Mōri & Uchida, 1974; Uchida & Mōri, 1974) 및 발생 메커니즘 (Mōri & Uchida, 1982; Kimura & Uchida, 1983, 1984; Uchida et al., 1984), 정자의 미세구조 (Kim et al., 1999)와 세포소기관의 형태변화 (Son et al., 1997;

Choi et al., 1998), 자성 생식도관내 정자저장과 운명 (Mōri & Uchida, 1980) 그리고 번식주기와 계절적 변화와의 관련성 (Bernard & Hodgson, 1989; Bernard et al., 1991) 등이 다수 보고 되어져 있으나, 긴날개박쥐 (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*)의 1년을 통한 세정관 정상피의 주기는 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 한국산 긴날개박쥐 수컷의 세정관 상피의 년 주기를 조사함으로써 일반 포유류와는 다른 번식주기와 정자형성세포의 분화단계를 알아보고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 1. 실험재료

본 실험에 사용된 재료는 2003년 1월부터 2003년 12월까지 경남일대의 폐광산과 자연동굴에서 서식하는 긴날개박쥐 (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*) 수컷 58개체로서, 채색과 치식의 마모상태를 관찰하여 성체를 선별한 다음 실험에 사용하였다 (Table 1).

#### 2. 방법

##### 1) 정소 및 부정소의 외형관찰

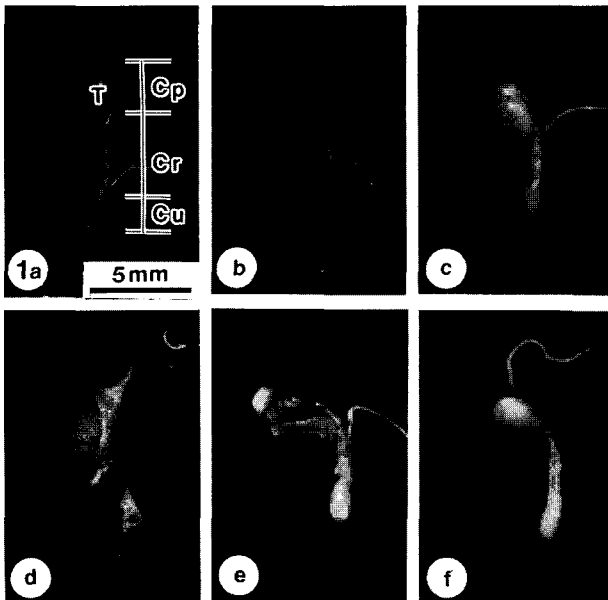
월별로 채집된 박쥐들은 해부 즉시 정소 및 부정소를 적출한 다음 3% glutaraldehyde (4°C, Millonig's buffer, pH 7.4)로 각각 24시간 정도 고정시킨 후 카메라 (Nikon F90X)로 외형을 촬영하였다 (Fig. 1).

\* 논문 접수: 2004년 9월 24일  
수정재접수: 2004년 10월 29일

<sup>†</sup> 교신저자: 이정훈, (우) 631-701 경남 마산시 월영동 449, 경남대학교 자연과학대학 생명화학부  
Tel: 82-55-249-2243, Fax: 82-55-249-6504  
e-mail: jhlee@kyungnam.ac.kr

**Table 1.** Date examined, localities and number of Korean long-winged bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus* examined this experiment

Date examined	Localities	No. of bats
In hibernation		
Jan. 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	3
Feb. 05, 2003	Yeoyang-ri Jinjeon-myeon Masan-si, Kyongsangnam-do	1
Feb. 11, 2003	Yeoyang-ri Jinjeon-myeon Masan-si, Kyongsangnam-do	1
Mar. 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	3
Mar. 15, 2003	Yeoyang-ri Jinjeon-myeon Masan-si, Kyongsangnam-do	2
Upon arousal		
Apr. 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	2
Apr. 15, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	1
May 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	2
May 26, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	1
Jun. 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	3
Jun. 26, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	2
Jul. 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	4
Aug. 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	4
Aug. 26, 2003	wandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	3
Sep. 16, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	4
Sep. 29, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	3
Oct. 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	6
Oct. 26, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	4
In hibernation		
Nov. 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	5
Dec. 11, 2003	Gwandeok-ri Dosan-myon, Tongyoung-si, Kyongsangnam-do	4



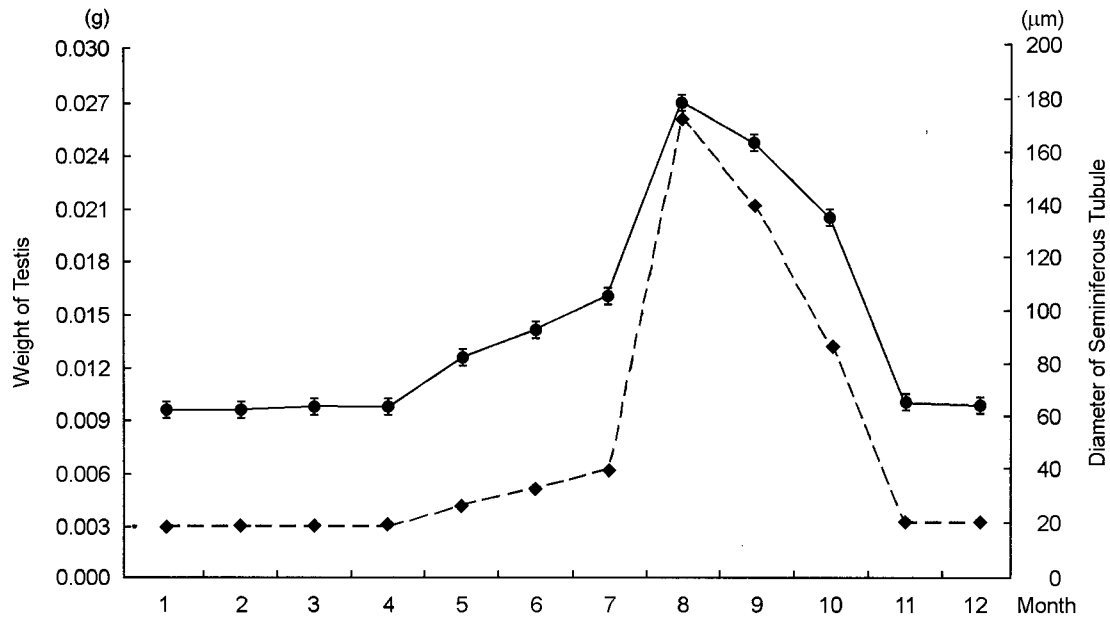
**Fig. 1.** Lateral views of adult male Korean long-winged bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus* reproductive organs showing monthly changes in their morphological features and size (a, April; b, May; c, July; d, August; e, October; f, November). Note the expanded testis in August sample (Fig. 1d). Cp, caput epididymis; Cr, corpus epididymis, Cu, cauda epididymis, T, testis. All scale bars = 5 mm.

## 2) 광학현미경 시료제작

세정관 정상피의 년 주기 (annual cycle)를 알아보기 위하여 각 월별로 채집된 박쥐들은 채집 즉시 실험실로 운반하여 에테르 마취 하에서 정소를 채취한 다음, 3% glutaraldehyde (4°C, Milloning's buffer, pH 7.4)로 12시간 전 고정한 후, 세절하여 완충액 (4°C, Milloning's buffer, pH 7.4)으로 수세하였고, 수세가 끝난 조직편들은 1.33% OsO<sub>4</sub> (4°C, Milloning's buffer, pH 7.4)로 2시간 후 고정하였다. 고정이 끝난 조직편들은 다시 동일한 완충액으로 수세한 다음 acetone 농도 상승 순으로 탈수하였다. 탈수가 끝난 조직편들은 Epon 812 혼합액으로 포매하여 굳힌 다음 ultramicrotome (MT-6000, Sorvall)을 이용하여 300~400 nm 두께로 자른 후 0.5%-toluidine blue로 염색하여 광학현미경 (Nikon LH-M110C-1)으로 관찰하였다.

## 결 과

긴날개박쥐 (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*)의 월별에 따른 정소의 형태변화, 정소무게, 세정관 직경의 변화 및 세정관 정상피의 년 주기를 조사한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다 (Figs. 1~16).



**Fig. 2.** Relationship between the seminiferous tubules diameter and the testis weight throughout the year in the Korean long-winged bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*. There were significant differences in monthly changes of diameter of the seminiferous tubules (●) and changes of weight of testis (◆) of Korean long-winged bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus* ( $P < 0.05$ ).

### 1. 월별에 따른 정소의 형태변화

월별에 따른 긴날개박쥐의 정소의 형태변화는 큰 차이를 나타내었다. 즉 정소의 크기는 5월부터 (길이: 2.66 mm; 폭: 2.08 mm) 서서히 증가하기 시작하여 8월에서는 최고로 팽대하였고 (길이: 4.33 mm; 폭: 3.59 mm), 9월부터는 서서히 감소하기 시작하여 (길이: 4.16 mm; 폭: 3.47 mm) 동면 개시기인 11월에서는 급속히 감소하기 시작하여 (길이: 2.40 mm; 폭: 1.67 mm) 익년 4월까지 (길이: 2.63 mm; 폭: 1.98 mm) 크기의 변화 없이 거의 일정하게 유지되었다 (Fig. 1a-f).

### 2. 정소의 무게 변화 및 세정관 직경의 크기 변화

활동기 (동면 각성기인 4월부터 동면 개시기 전인 10월까지) 동안의 정소의 무게는 5월부터 (0.004 g) 서서히 증가하여 8월에는 최대치를 나타내었고 (0.026 g), 9월부터 (0.021 g) 서서히 감소하기 시작하여 동면 개시기인 11월부터 (0.003 g) 익년 4월까지 (0.003 g) 무게의 변화 없이 거의 일정하게 유지되었다 (Fig. 2). 뿐만 아니라 세정관 직경의 크기변화 역시 정소의 무게변화와 마찬가지로 5월부터 증가하기 시작하여 (82~84 μm, mean=82.55 μm) 8월에 최대치를 나타내었고 (178~180 μm, mean=179.05 μm), 9월부터 감소되기 시작하여 (163~165 μm, mean=163.95 μm), 11월부터 (64~66 μm, mean=64.95 μm) 익년 4월까지 (63~66 μm, mean=64.45 μm) 비슷한 크기를 유지하였다 (Table 2, Fig. 2). 따라서 월별에 따른 세정관의 직경변화는 전체적으로 유의적 차이 ( $P < 0.05$ )가 있

는 것으로 나타났다. 한편, 각성기인 4월과 동면 개시기인 11월부터 익년 4월까지의 Duncan test 결과 유의적 차이가 없는 것으로 나타났으며, 정소의 무게변화와 세정관의 직경변화에 대한 선형회귀분석 결과 값이  $R=0.971$ 로 서로 연관성이 매우 큰 것으로 나타났다 (Fig. 2).

### 3. 정소내 조직변화

#### 1) 1월의 실험군

세정관의 내강 (lumen)은 닫혀져 있었으며, 기저막 (basal lamina)은 매우 꾸불꾸불한 요철의 형태를 취하고 있었다. 세정관의 인접부에는 다수의 간질세포 (interstitial cell)들이 관찰되었다. 세정관내에는 Ad형 정원세포 (dark type spermatogonium)를 비롯하여 퇴화중인 Ad형 정원세포들이 다수 관찰되었으며 (arrowheads), 지질방울 (lipid droplets)과 lipofuscin 과립들이 세정관내에 존재하고 있다 (Fig. 3).

#### 2) 2월의 실험군

여전히 기저막은 요철의 형태를 취하고 있었으며, 1월의 실험군과 마찬가지로 Ad형 정원세포를 비롯하여 퇴화중인 Ad형 정원세포도 세정관내에 관찰되었으며 (arrowheads), 지질방울과 lipofuscin 과립들이 세정관내에 존재하고 있다 (Fig. 4).

#### 3) 3월의 실험군

내강 역시 1, 2월의 실험군과 마찬가지로 닫혀져 있었으며, 기저막 또한 1, 2월 실험군과 거의 유사한 형태를 취하고 있었으며, 여전히 Ad형 정원세포와 퇴화중인 Ad형 정원세포를

**Table 2.** Monthly changes of seminiferous tubule diameter and degree of appearance of spermatogenic cell types in the seminiferous tubules of *M. s. fuliginosus*

Month	Diameter of seminiferous tubules (μm)	Degree of appearance of spermatogenic cells						
		Spermatogonia			Spermatocytes		Spermatids	Sperm
		Ad	Ap	B	Primary	Secondary		
Jan.	63~65* (Mean: 64.05)	▼						
Feb.	63~65* (Mean: 64.15)	▼						
Mar.	63~66* (Mean: 64.20)	▼						
Apr.	63~66* (Mean: 64.45)	▼						
May	82~84* (Mean: 82.55)							
Jun.	92~94* (Mean: 93.30)							
Jul.	105~107* (Mean: 106.10)							
Aug.	178~180* (Mean: 179.05)							
Sep.	163~165* (Mean: 163.95)						▽	
Oct.	134~136* (Mean: 135.20)	▼						
Nov.	64~66* (Mean: 64.95)	▼						
Dec.	63~65* (Mean: 64.15)	▼						

Ad, Ap and B is dark, pale and B types of spermatogonia, respectively. \*, The diameter was determined from 20 seminiferous tubules cross-sections for each of the 58 specimens utilized for this analysis; ▽, The spermatids are degenerated by phagocytosis of Sertoli cells; ▼, A few of dark type of spermatogonia (Ad) are degenerated

비롯하여 (arrowheads) 지질방울과 lipofuscin 과립들이 세정관내에 존재하고 있다 (Fig. 5).

#### 4) 4월의 실험군

여전히 내강은 닫혀져 있었고, 세정관내에는 크고 작은 지질방울들이 1, 2, 3월의 실험군보다 수적으로 다소 증가한 양상을 나타내었고, 반면에 퇴화중인 Ad형의 정원세포들은 수적으로 다소 감소하는 양상을 나타내었다 (Fig. 6).

#### 5) 5월의 실험군

본 실험군에서 처음으로 Ap형 정원세포 (pale type spermatogonia)가 나타났으며, Sertoli 세포들 사이에 다수의 Ad형 정원세포들이 관찰되었다. 내강 역시 여전히 닫혀져 있었으며, 이 시기에는 퇴화 중의 Ad형 정원세포들은 관찰되지 않았으나, 여전히 세정관내에는 크고 작은 지질방울들과 lipo-

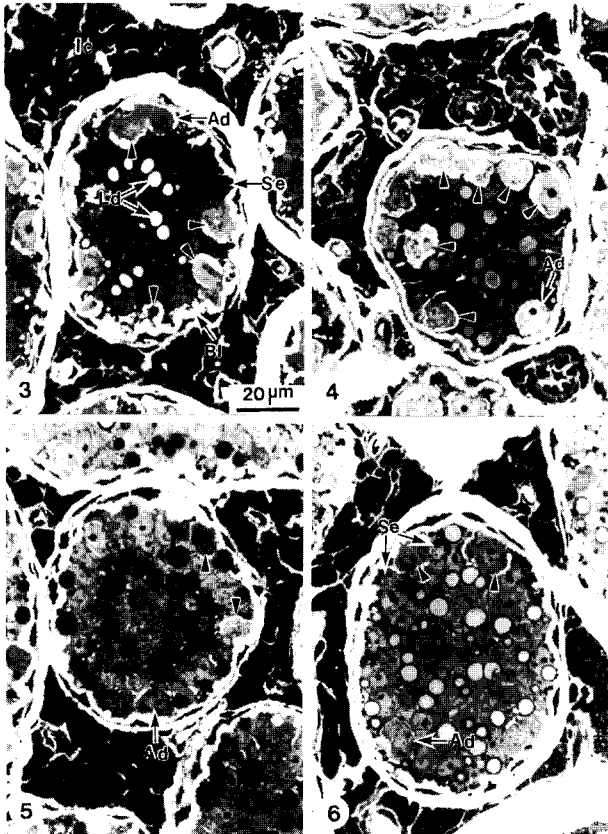
fuscin 과립들이 존재하고 있었다 (Fig. 7).

#### 6) 6월의 실험군

기저막은 현저하게 얇아져 있었으며, Ad 및 Ap형 정원세포를 비롯하여 처음으로 B형 정원세포 (B type spermatogonia)와 제1감수분열 단계의 세사기 (Leptotene)의 정모세포가 관찰되었다. 여전히 세정관의 내강은 닫혀져 있었으며, 크고 작은 지질방울들이 다수 세정관내에 존재하고 있었다 (Fig. 8).

#### 7) 7월의 실험군

세정관은 현저히 팽대되어져 있었으며, 내강은 여전히 닫혀져 있었다. 6월의 실험군과 마찬가지로 Ad, Ap 및 B형 정원세포를 비롯하여 제1감수분열 단계의 세사기 정모세포가 관찰되었으며, 지질방울 역시 6월의 실험군보다 수적으로



**Figs. 3-14.** Light micrographs showing the spermatogenic cell differentiations of seminiferous tubules in the testis throughout the year in the Korean long-winged bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*. All scale bars = 20  $\mu$ m.

**Fig. 3.** Light micrograph of January seminiferous tubule. The basal lamina (Bl) was seen extremely prominence. Many of dark type of spermatogonia (Ad) are observed in the seminiferous tubule. The lumen was closed. Note degenerated Ad spermatogonia (arrowheads), and many of lipid droplets (Ld).

**Fig. 4.** Light micrograph of February seminiferous tubule. February sample tends to the same as January seminiferous tubule.

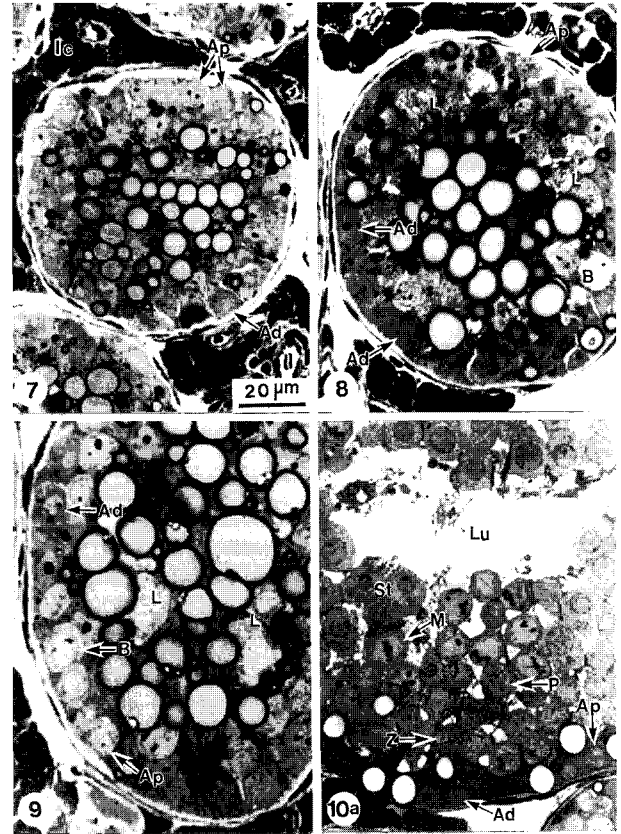
**Fig. 5.** Light micrograph of the March seminiferous tubule. The seminiferous tubule diameter is intend the same that of January and February samples. Note the degenerated Ad spermatogonia (arrowheads), and many of lipid droplets.

**Fig. 6.** Light micrograph of the April seminiferous tubule. Note the degenerated Ad spermatogonia are decreased (arrowhead).

증가 되었을 뿐만 아니라 크기의 증가도 보였다 (Fig. 9).

#### 8) 8월의 실험군

이 시기부터 세정관의 내강은 열려져 있었으며, 정자형성 과정의 전 단계를 관찰할 수 있었다 (Fig. 10a-e). 첫 단계에서는 Ad와 Ap형 정원세포를 비롯하여 제1감수분열 단계의 태사기 (Zygotene)와 후사기 (Pachytene)의 제1정모세포들, 그리고 제2차 감수분열 단계의 중기 상 (Metaphase)의 정모세포 및 정자변태과정 중 초기단계의 둥근 정자세포들이 다



**Fig. 7.** Light micrograph of the May seminiferous tubule. The pale type of spermatogonia (Ap) are first observed in the seminiferous tubule. Note degenerated Ad spermatogonia not observed.

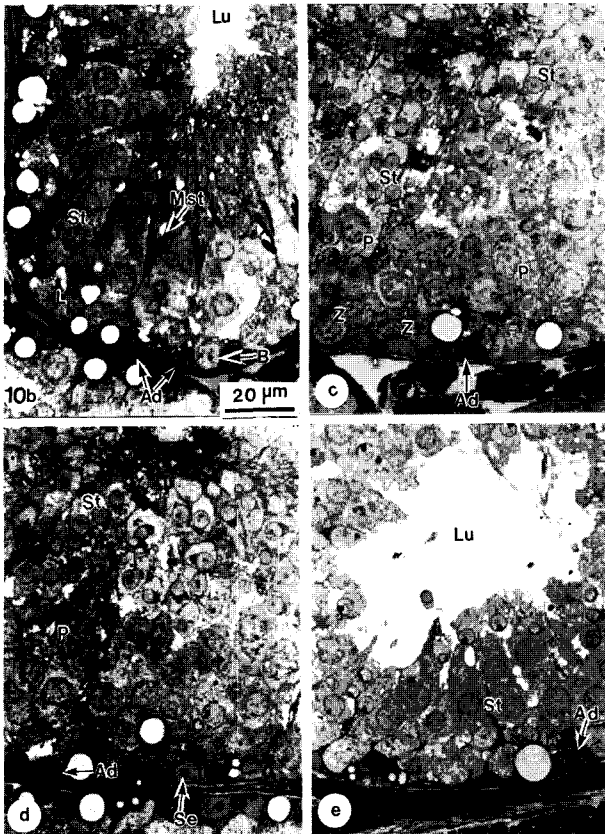
**Fig. 8.** Light micrograph of the June seminiferous tubule. The basal lamina (Bl) are expanded. Not only Ad and Ap spermatogonia but also B spermatogonia are first observed.

**Fig. 9.** Light micrograph of the July seminiferous tubule. The spermatogonia (A and B types) and leptotene (L) of primary spermatocyte in interphase of meiosis I were observed in the seminiferous tubule, a few of lipofuscin granules were distributed in the seminiferous tubule.

수 관찰되었다 (Fig. 10a). 둘째단계에서는 B형 정원세포와 세사기의 정모세포, 그리고 정자변태과정 중 초기단계의 둥근 정자세포와 성숙단계의 정자세포들이 다수 관찰되었다 (Fig. 10b). 셋째단계에서는 태사기와 후사기의 점모세포를 비롯하여 정자변태과정 중 두모단계의 정자세포들이 다수 관찰되었다 (Fig. 10c). 넷째단계에서는 제1감수분열 단계의 후사기의 정모세포와 침체단계의 정자세포가 다수 관찰되어 졌으며 (Fig. 10d), 다섯 번째 단계에서는 분열중인 다수의 초기 정자세포를 비롯하여 침체 및 성숙단계 중의 정자세포, 그리고 이탈기 (spermiation phase)의 정자세포들이 다수 관찰되었다 (Fig. 10e).

#### 9) 9월의 실험군

8월의 실험군과 마찬가지로 내강은 열려져 있었으며, 기

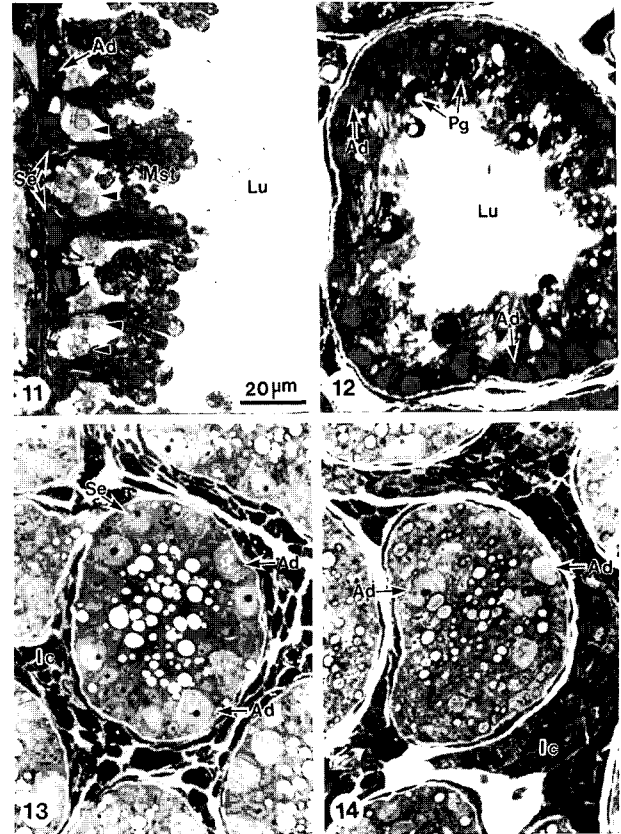


**Fig. 10 (a-e).** Light micrographs of the August seminiferous tubules. (a), The basal lamina expanded than in June and July. The primary round spermatids (St) including zygotene (Z), pachytene (P) primary spermatocytes in interphase of meiosis I and metaphase (M) of secondary spermatocytes were observed in the seminiferous tubule. The lumen (Lu) was opened. (b), A few of A and B spermatogonia and leptotene (L) primary spermatocyte including many of round spermatids (St) and mature spermatids (Mst) were observed in the seminiferous tubule. (c), A great many of zygotene (Z) and pachytene (P) primary spermatocytes in prophase of meiosis I, and the spermatids (St) of cap phase during spermiogenesis were observed in the seminiferous tubule. (d), Many of pachytene (P) primary spermatocyte in prophase of meiosis I and spermatids (St) of acrosomal phases during spermiogenesis were observed in the seminiferous tubule. (e), Only great many of primary round spermatids (St) and the spermatids of acrosomal phase during spermiogenesis were observed in the seminiferous tubule.

저막 가까이에는 Ad형 정원세포 (Ad형)를 비롯하여 퇴화중인 초기 등근 정자세포 (arrowheads)들과 성숙중인 정자세포 및 Sertoli 세포로부터 이탈중인 정자세포들이 다수 관찰되었다 (Fig. 11).

#### 10) 10월의 실험군

세정관들은 다소 위축되어져 있었으나, 내강은 열려져 있었으며, 미성숙한 정자형성세포들이 Sertoli 세포의 phagocytosis 과정의 일환으로 포식되어져 나타났다 (Fig. 12).



**Fig. 11.** Light micrograph of the September seminiferous tubule. Numerous mature spermatids (Mst) were observed in the seminiferous tubule. Note degenerated round spermatids (arrowheads).

**Fig. 12.** Light micrograph of the October seminiferous tubule. Immature spermatogenic cells in the seminiferous tubule have been engulfed by phagocytosis of Sertoli cells.

**Fig. 13.** Light micrograph of the November seminiferous tubule. Only Ad type of spermatogonia I existed in the seminiferous tubule, and the lumen was closed.

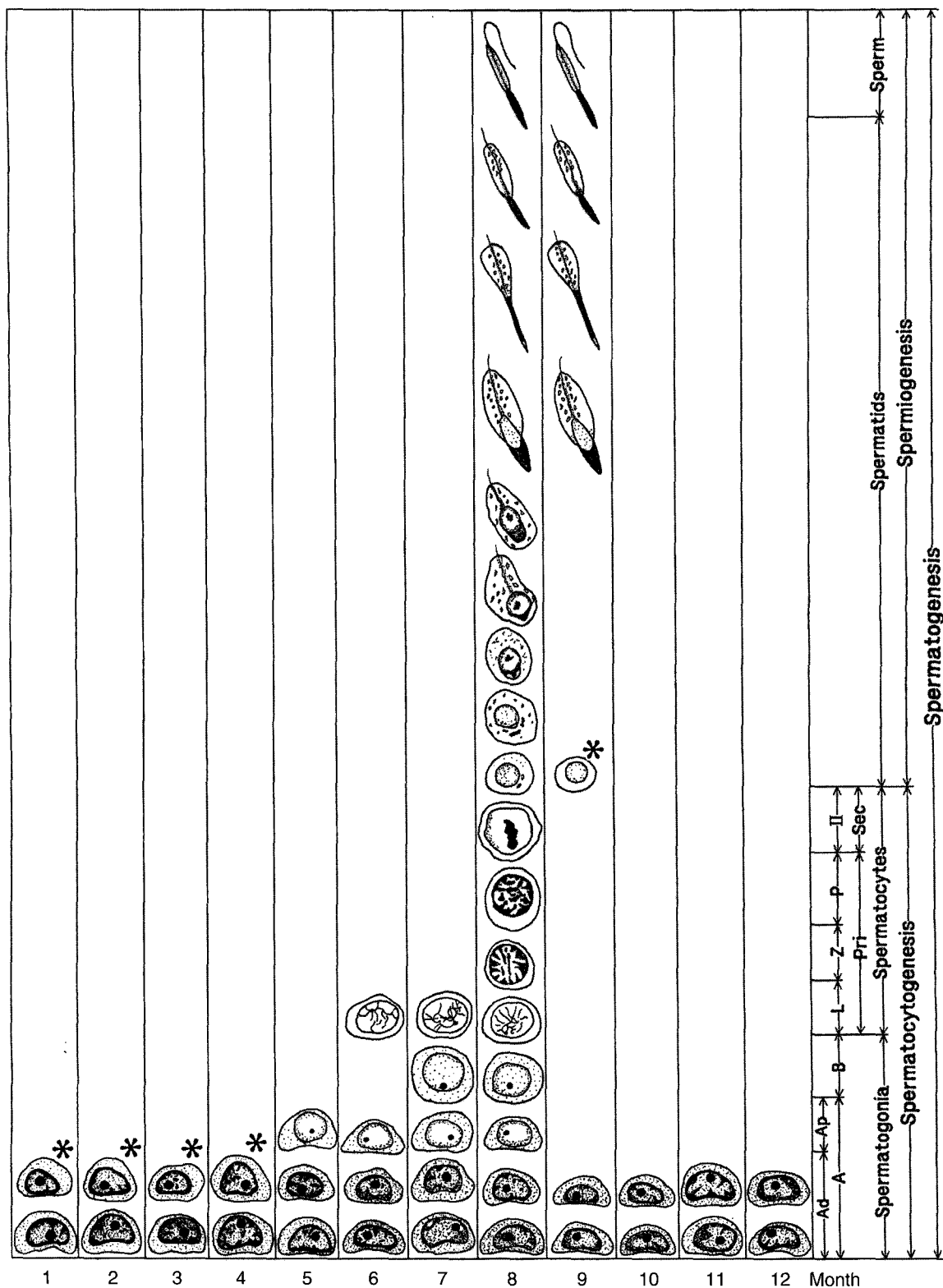
**Fig. 14.** Light micrograph of the December seminiferous tubule. Ad spermatogonia are observed in the seminiferous tubule. Many of lipid droplets (Ld) distributed throughout the lumen of seminiferous tubule, and the lumen was closed as November (Fig. 13).

#### 11) 11월의 실험군

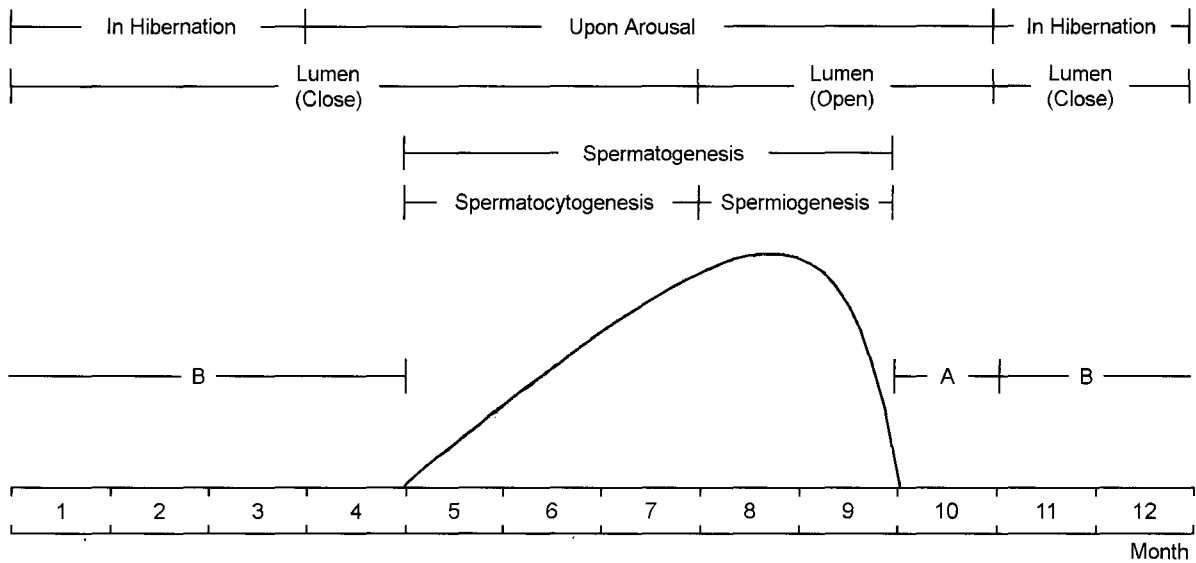
세정관은 더욱 더 위축되어졌으며, 세정관의 내강은 완전히 닫혀져 있었다. 이 시기에는 Ad형의 정원세포만이 저막 가까이에 위치하고 있었으며, 세정관내에는 지질방울들이 다시 관찰되었다 (Fig. 13).

#### 12) 12월의 실험군

11월의 실험군과 거의 유사한 양상을 나타내었다. 즉 세정관 역시 위축되어져 있었으며, 내강 역시 닫혀져 있었다. 뿐만 아니라, 이 실험군에서도 11월 실험군과 마찬가지로 Ad형의 정원세포만이 세정관의 저막 위에 존재하고 있었으며, 여전히 지질방울들이 관찰되었다 (Fig. 14).



**Fig. 15.** Schematic representation of changes in the cellular composition of the seminiferous epithelium throughout the year in the Korean long-winged bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*. Ad, dark type of spermatogonium; Ap, pale type of spermatogonium; B, B type of spermatogonium; L, leptotene of primary spermatocyte; Z, zygotene of primary spermatocyte; P, pachytene of primary spermatocyte; II, secondary spermatocyte; St, spermatid; S, sperm. \*, degenerating spermatogenic cells.



**Fig. 16.** The periodic changes of the seminiferous epithelium in testis throughout the year in the Korean long-winged bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*. A, Degeneration of spermatogenic cells and/ or clearance by phagocytosis of Sertoli cells; B, Resting period.

#### 4. 세정관 상피의 년 주기

정자형성은 5월부터 일어나기 시작하여 8월에는 가장 왕성하였고, 9월에 완료되었으며, 10월부터 익년 4월까지의 휴지상태를 나타내었다. 정모세포발생은 5월부터 7월까지 일어났으며, 정자변태는 8월과 9월에 걸쳐 각각 일어났다. 10월에는 세정관내 미성숙 정자형성세포들이 Sertoli 세포의 phagocytosis 과정의 일환으로 포식되어졌고, 이러한 과정으로 인하여 11월부터 익년 4월까지의 계속되어졌으며, 그 결과 세정관내에는 Sertoli 세포와 Ad형 정원세포만이 존재하고 있었다. 또한 세정관 내강은 8월부터 10월까지만 열려져 있었고, 동면 개시기인 11월부터 익년 7월까지의 닫혀져 있었다 (Figs. 15, 16).

#### 고 찰

본 연구는 한국산 긴날개박쥐 (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*)의 세정관 정상피의 년 주기를 조사하여 수컷의 번식주기와 월별에 따른 정자형성세포의 분화단계를 알아보기 위하여 시도되었다. 긴날개박쥐의 정소무게와 크기의 변화, 세정관 직경의 변화는 5월부터 서서히 증가하여 8월에는 최대치를 나타내었고, 10월에는 급격히 감소하여, 동면 개시기인 11월부터 익년 4월까지의 일정하게 유지되었다. 즉, 월별에 따른 세정관의 직경변화는 전체적으로 유의적 차이 ( $P < 0.05$ )를 보였고, 동면 개시기인 11월부터 익년 4월까지의 Duncan test 결과 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 정소의 무게변화와 세정관의 직경변화에 대한 선형회귀분석

결과 값이  $R=0.971$ 로 서로 연관성이 매우 큰 것으로 나타났다. 따라서 정자형성시의 정소의 크기와 세정관의 크기 그리고 세정관의 직경변화는 정자형성과 관련이 있으며 (Bernard et al., 1997), 이러한 사실로 미루어 보아 정소의 무게와 세정관 직경의 변화는 세정관 정상피의 분화와 조절에 기인함을 시사해 준다.

본 연구에서 정자형성과정은 5월부터 일어나기 시작하여 8월에는 가장 왕성하였고, 9월에 완료되었으며, 10월부터 익년 4월까지의 정지되었다 (Fig. 16). 이러한 결과는 한국산 관박쥐 (*Rhinolophus feruquinum* Korai; Oh, 1977; Lee et al., 1993)와 큰발웃수염박쥐 (*Myotis macroductylus*; Lee & Mōri, 2004)의 정자형성 개시기와 종료기가 거의 일치하는 결과를 나타내었다.

정모세포발생의 경우, 본 연구에서는 5월부터 7월까지 일어났으며 (Figs. 5~9), 정자변태는 8월과 9월에 걸쳐 각각 일어났다 (Figs. 10, 11). 관박쥐의 경우, 정모세포발생 단계가 5월과 6월에, 정자변태는 7월부터 10월까지 나타났으며 (Lee et al., 1993), 큰발웃수염박쥐 (*Myotis macroductylus*)의 경우, 정모세포발생 단계는 단지 4월부터 6월까지, 정자변태는 7월부터 9월까지에 걸쳐 나타났다 (Lee & Mōri, 2004). 이러한 차이는 외적요인인 서식 환경적 차이 (온도영향 혹은 광주기)로 인한 내적요인 (호르몬의 작용 등)에 많은 영향을 미치는 결과라고 여겨진다.

또한, 본 연구에서는 큰발웃수염박쥐 (Lee & Mōri, 2004)와 마찬가지로 동면 개시기 전인 10월경에는 세정관내 미성숙 정자형성세포들이 Sertoli 세포의 phagocytosis 과정의 일환으로 포식되어졌고 (Fig. 12), 이러한 과정은 11월부터 (Fig.



13) 익년 4월까지 (Fig. 6) 계속되어졌다. 그 결과 세정관내에는 Sertoli 세포와 Ad형 정원세포만이 존재하고 있었다. 관박쥐의 경우는 다소 차이를 보이는데, 즉 동면 개시기인 11월부터 세정관내의 phagocytosis 과정이 일어나서 이듬해 4월까지 점진적인 식작용이 일어나는데, Lee et al. (1993)는 이것은 교미 후 세정관내에 새로운 정자를 만들기 위한 준비단계로서의 정화 (청소)를 의미하며, 이 기간을 정화기간이라고 기술하였다. 이러한 사실로 미루어 보아 긴 동면 동안에는 에너지 유지와 번식주기를 조절하기 위한 일종의 적응전략을 의미하며 (Funakoshi & Uchida, 1978; Lee, 2003; Lee & Mōri, 2004), 뿐만 아니라 오래된 정자를 청소함으로써 이듬해 교미시기에는 새로운 정자를 만들기 위한 정화기간으로서의 준비시기임을 의미한다. 동면성 박쥐에 있어서, 동면 전 후로 하여 이러한 세정관내의 정화활동은 거의 대부분이 Sertoli cell에 의존되고 있음을 확인할 수가 있었고 (Lee et al., 1993; Lee & Mōri, 2004), 동면기간 동안에도 여전히 Sertoli cell의 식작용이 서서히 진행되고 있는 점을 미루어 보아 이러한 현상은 낮은 대사율을 반영하고 있음을 암시해 준다. 뿐만 아니라, 본 연구에서도 이 특정한 기간 동안에 미성숙 정자형성세포들이 퇴화되어졌고, 이러한 결과로 Sertoli cell의 세포질 내에는 다량의 지갈소 (lipofuscin)들이 산재되어져 있었으며, 정원세포들만이 세정관내에 존재하고 있음을 볼 때, 세정관의 정화는 교미를 마친 후인 10월경부터 시작하여 이듬해 4월까지 약 7개월에 걸쳐서 이루어짐을 알 수가 있었다.

관박쥐의 경우, 정자변태과정 중의 성숙 전 후 단계에서 정자세포의 세포질내에 다량의 지방방울 (lipid droplets)들이 존재하는 것으로 보아 성숙정자를 만드는데 필요한 에너지원으로 사용되리라고 추측하고 있으나 (Lee et al., 1992), 본 연구에서는 동면기 (11월부터 3월까지)와 각성 개시기인 4월, 그리고 활동기인 5월부터 8월까지의 세정관내에 크고 작은 지질방울들이 관찰되었는데, 이는 아마도 동면기에는 에너지원으로서의 이용과 활동기에는 정자형성세포에 에너지원으로서의 이용을 시사하는 바 크며, 이들 두 시기에서 나타나는 지방방울을 생화학적 방법을 통해 밝혀진다면 체 유지를 위한 지방 인지 아니면 steroid 관련성 지방 인지를 확인할 수 있으리라 여겨지며, 앞으로 이에 대한 세부적인 연구가 필요하리라 판단된다. 이와 관련된 몇몇의 연구는 동면기와 활동기 동안의 혈중내의 성 호르몬 (testosterone 및 androgen) 분비의 양적변화 (Racey, 1974; Gustafson & Shemesh, 1976; Bernard, 1986; Bernard et al., 1991; Singh & Krishna, 2000)와 부속기관의 활성 여부 (Racey, 1974; Gustafson & Shemesh, 1976; Bernard, 1986; Krutzsch & Crichton, 1987; Bernard et al., 1991; Singh & Krishna, 2000)에서 볼 때, 활동기 동안에는 이들 호르몬의 활성도가 높게 나타나는 반면에 동면기에는 활성도가 낮아진다는 공통된 결과는 정자생산에 직접적인

관련이 있는 호르몬이라는 사실을 잘 반영해 주고 있다.

한편, 박쥐 종에 있어서 같은 종이라 할지라도 서식적 차이로 인해 정자변태의 시기가 차이가 난다고 제시되었다 (Miller, 1939). 남아프리카산 *Rhinolophus capensis*와 *Miniopterus schreibersii*의 경우에는 동일한 지역에 서식하고 있으나, 세정관의 분화시기가 다르게 나타나며, *Rhinolophus capensis*의 정자형성은 10월에 시작하여 4월과 5월에 sertoli cell로부터 정자가 이탈되어지고, 6월에서 10월까지의 불활성 상태 (Bernard, 1986; Bernard & Hodgson, 1989)를 나타낸 반면에, *Miniopterus schreibersii*의 정자형성은 3월에 시작하여, 4월과 5월에 정자가 이탈되어지고, 6월부터 이듬해 2월까지의 불활성을 나타내었다 (Bernard & Hodgson, 1989; Bernard et al., 1991). 열대산 *Anoura geoffroyi*의 경우에는 정자형성 과정이 5월에서 8월에 걸쳐 나타났으며, 정자형성 활성도는 7월이 가장 높다 (Heideman et al., 1992). 미국산 *Myotis licifugus licifugus*의 경우에는 생식세포 활성도가 대략 5월 후부터 8월 후 혹은 9월초까지 나타나며, 동면기 (10월~4월) 동안 세정관 상피는 휴지상태가 되며, 단지 정원세포와 Sertoli cell만 존재하였다 (Gustafson, 1987). 일본산 *Rhinolophus cornutus*의 정자형성과정은 6월부터 세정관의 직경이 서서히 증가하여, 8월에 최대치가 되고, 10월에도 정자형성과정이 여전히 활성을 보이지만, 세정관 직경의 크기는 감소되는 경향을 보였으며, 12월에는 정자형성과정이 전혀 일어나지 않았다 (Kurohmaru et al., 2002). 이는 한국산 관박쥐 (Lee et al., 1993)와 거의 유사한 결과를 나타내었다. 아프리카 남동부 사바나지역에서 서식하는 *Pipistrellus nanus*의 경우에는 2월과 3월은 정자형성의 초기단계가 일어나고, 4월은 둥근 정자세포 그리고 5월에는 세정관의 20~40% 정도가 정자형성과정의 후기단계가, 6월에 세정관의 약 90% 이상이 정자형성과정의 후기단계, 7월과 8월 동안에도 정자를 계속적으로 만들었으며, 9월에는 정자형성이 완료되었는데 (Bernard et al., 1997), 이처럼 월별에 따라 정자형성세포의 분화단계가 각각 구분되어 나타나는 점이 다른 일반 포유류와는 차이가 있음을 알 수가 있으며, 한국산 관박쥐 (Lee & Son, 1993)와 큰발우수염박쥐 (Lee & Mōri, 2004) 그리고 본 연구에서도 월별변화에 따라 그 분화단계가 구분되어 나타났으며 (Fig. 15), 이러한 결과로 미루어 보아 한국산 긴날개박쥐의 세정관의 정상피의 주기적 변화 (Fig. 16)는 긴 동면을 위한 에너지 유지와 번식주기를 조절하기 위한 일종의 적응전략임을 암시해 준다.

#### 감사의 글

본 연구는 2003학년도 경남대학교 학술논문게재 연구비 지원에 의해서 이루어졌음.

## REFERENCES

- Bernard RTF. Seasonal changes in plasma testosterone concentrations and Leydig cell and accessory gland activity in the Cape horseshoe bat (*Rhinolophus capensis*). *J Reprod Fertil*. 1986. 78: 413-422.
- Bernard RTF, Hodgson AN. Ultrastructural changes in the seminiferous epithelium of two seasonally reproducing bats (Mammalia: *Chiroptera*). *J Morphol*. 1989. 199: 249-258.
- Bernard RTF, Bojarski C, Millar RP. Patterns of Leydig cell and LH gonadotroph activity, and plasma testosterone concentrations in the seasonally reproducing Schreibers' long-fingered bat (*Miniopterus schreibersii*). *J Reprod Fertil*. 1991. 91: 479-492.
- Bernard RTF, Happold DCD, Happold M. Sperm storage in a seasonally reproducing African vespertilionid the banana bat (*Pipistrellus nanus*) from Malawi. *J Zool. (Lond)* 1997. 241: 161-174.
- Choi BJ, Son SW, Lee JH, Lee KI. Electron microscopic observations on the endoplasmic reticulum and Golgi complex during spermiogenesis in the long-fingered bat (*Miniopterus schreibersii fuliginosus* Hodgson). *Korean J Electr Microsc*. 1998. 28: 603-613.
- Fawcett DE, Ito S. The fine structure of bat spermatozoa. *Am J Anat*. 1965. 116: 567-610.
- Funakoshi K, Uchida TA. Studies on the physiological and ecological adaptation of temperate insectivorous bat. II. Hibernation and winter activity in some cave-dwelling bat. *Jap J Ecol*. 1978. 28: 237-261.
- Gustafson AW. Male reproductive patterns in hibernating bats. *J Reprod Fert*. 1979. 56: 317-331.
- Gustafson AW. Changes in Leydig cell activity during the annual testicular cycle of the bat *Myotis lucifugus lucifugus*; Histology and lipid histochemistry. *Am J Anat*. 1987. 178: 312-325.
- Gustafson AW, Shemesh M. Changes in plasma testosterone levels during the annual reproductive cycle of the hibernating bat, *Myotis lucifugus lucifugus* with a survey of plasma testosterone levels in adult male vertebrates. *Biol Reprod*. 1976. 15: 9-24.
- Heideman PD, Deoraj P, Bronson FH. Seasonal reproduction of a tropical bat, *Anoura geoffroyi*, in relation to photoperiod. *J Reprod Fertil*. 1992. 96: 765-773.
- Kim SS, Lee JH, Son SW, Choi BJ. Morphological comparison of spermatozoa in the Korean greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum korai*) and long-fingered bat (*Miniopterus schreibersii fuliginosus*). *Korean J Electr Microsc*. 1999. 29: 1-10.
- Kimura K, Uchida TA. Ultrastructural observations of delayed implantation in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. *J Reprod Fertil*. 1983. 69: 187-193.
- Kimura K, Uchida TA. Development of the main and accessory placenta in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. *J Reprod Fertil*. 1984. 71: 119-126.
- Kimura K, Takeda A, Uchida TA. Changes in progesterone concentrations in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. *J Reprod Fertil*. 1987. 80: 59-63.
- Krutzsch PH, Crichton EG. Reproductive biology of the male little mastiff bat, *Mormopterus planiceps* (Chiroptera: Molossidae), in Southeast Australia. *Am J Anat*. 1987. 178: 352-368.
- Kurohmaru M, Saruwatari T, Kimura J, Mukohyama M, Watanabe G, Taya K, Hayashi Y. Seasonal changes in spermatogenesis of the Japanese lesser horseshoe bat, *Rhinolophus cornutus* from a morphological viewpoint. *Okajimas Folia Anat Jpn*. 2002. 79: 93-100.
- Lee JH. Cell differentiation and ultrastructure of the seminiferous epithelium in *Myotis macroductylus*. *Korean J Electr Microsc*. 2003. 33: 25-39.
- Lee JH, Mōri T. Annual cycle of the seminiferous epithelium of *Myotis macroductylus*. *J Fac Agr Kyushu Univ*. 2004 (in press).
- Lee JH, Son SW. Periodic changes of the male reproductive organs and electrophoretic pattern of proteins in the Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. *Korean J Electr Microsc*. 1993. 23: 30-60.
- Lee JH, Choi BJ, Son SW. Spermiogenesis in the Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. *Korean J Electr Microsc*. 1992. 22: 97-117.
- Lee JH, Son SW, Mōri T, Shiraishi S. Studies on the reproductive pattern in the male of Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai* I. The cycle of seminiferous epithelium and histological changes of testis. *Korean J Zool*. 1993. 36: 36-50.
- Miller RE. The reproductive cycle in male bats of the species *Myotis lucifugus lucifugus* and *Myotis grisescens*. *J Morphol*. 1939. 64: 267-295.
- Mōri T, Uchida TA. Electron microscopic analysis of the mechanism of fertilization in chiroptera II. Engulfment of spermatozoa by epithelium cells of the fallopian tube in the Japanese

- house bat, *Pipistrellus abramus*. Zool Mag. 1974. 83: 163-170.
- Mōri T, Uchida TA. Sperm storage in the reproductive tract of the female Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. J Reprod Fertil. 1980. 58: 429-433.
- Mōri T, Uchida TA. Ultrastructural observations of fertilization in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. J Reprod Fertil. 1981a. 63: 231-235.
- Mōri T, Uchida TA. Ultrastructural observations of ovulation in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. J Reprod Fertil. 1981b. 63: 391-395.
- Mōri T, Uchida TA. Changes in the morphology and behaviour of spermatozoa between copulation and fertilization in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. J Reprod Fertil. 1982. 65: 23-28.
- Oh YK. Periodic changes of the testis and ductus epididymis in Korean hibernation bats. Korean J Zool. 1977. 20: 67-76.
- Oh YK, Mori T, Uchida TA. Prolonged survival of the Graafian follicle and fertilization in the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumquinum nippon*. J Reprod Fertil. 1985. 73: 121-126.
- Racey PA. The reproductive cycle in male noctule bats, *Nyctalus noctula*. J Reprod Fertil. 1974. 41: 169-182.
- Singh UP, Krishna A. Seasonal changes in circulating testosterone and androstenedione concentration and their correlation with the anomalous reproductive pattern in the male Indian sheath-tailed bat, *Taphozous longimanus*. J Exp Zool. 2000. 287: 54-61.
- Son SW, Lee JH, Choi BJ, Shin HJ. Spermiogenesis in the Korean long-fingered bat (*Miniopterus schreibersii fuliginosus*). Korean J Zool. 1995. 38: 405-416.
- Son SW, Lee JH, Choi BJ. Morphological changes of Golgi apparatus during spermiogenesis in the long-fingered bat (*Miniopterus schreibersii fuliginosus*). Dev Reprod. 1997. 1: 133-139.
- Uchida TA. A review on affinity in Chiroptera. Mamm Sci (in Japanese). 1964. 6: 13-27.
- Uchida TA, Mōri T. Electron microscopic analysis of the mechanism of fertilization in chiroptera. I. Acrosomal reaction and consequence to death of the sperm in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. Sci Bull Fac Agr Kyushu Univ. 1974. 28: 177-184.
- Uchida TA, Inoue C, Kimura K. Effects of elevated temperatures on the embryonic development and corpus luteum activity in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. J Reprod Fertil. 1984. 71: 439-444.